

DE3522610

Publication Title:

Chamber for the treatment of cells in an electric field

Abstract:

The chamber for treating cells in an electric field includes an interior space for a cell suspension having a region between the electrodes inside of which the cells are exposed to the electric field. In order to provide an improved chamber the region in which the cells are treated-up to an inlet or outlet for the cell suspension-is bounded by surfaces of the electrodes which are positioned equidistant from each other. Preferable these electrode surfaces are coaxial or concentric. In one specific embodiment of my chamber a first electrode is the inner electrode and a second electrode is the outer electrode and the surfaces of the inner electrode and the inside surfaces of the outer electrode are cylindrical so that the region between the electrodes is a cylindrical annular space. The front end of the circular space opens to the exterior while the other opposing end of the circular space opens into an axial duct in the inner electrode which is connected to the inlet of the chamber by a conical passage which widens toward the exterior whose dimensions are selected so that a standard pipette can be inserted into it.

Data supplied from the esp@cenet database - <http://ep.espacenet.com>



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑳ Aktenzeichen: P 35 22 610.2
㉔ Anmeldetag: 25. 6. 85
㉕ Offenlegungstag: 18. 12. 86

Behördeneigentum

DE 3522610 A1

③① Innere Priorität: ③② ③③ ③①
12.06.85 DE 35 21 034.6

⑦① Anmelder:
Kernforschungsanlage Jülich GmbH, 5170 Jülich, DE

⑦② Erfinder:
Matschke, Christian, 5110 Alsdorf, DE

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤④ **Kammer für die Behandlung von Zellen im elektrischen Feld**

Die Erfindung bezieht sich auf eine Kammer für die Behandlung von Zellen im elektrischen Feld. Derartige Kammern besitzen einen Raum zur Aufnahme der Zellsuspension mit einer zwischen zwei Elektroden liegenden Zone, innerhalb der die Zellen im elektrischen Feld ausgesetzt werden. Das Ziel der Erfindung, eine leicht handhabbare Kammer zu schaffen, wird durch eine Kammer gelöst, bei der die Zone - bis auf eine Einfüll- bzw. Ausfüllöffnung für die Zellsuspension - von äquidistant einander gegenüberliegenden, coaxial oder konzentrisch angeordneten Oberflächen der Elektroden begrenzt ist. Bei einer besonderen Ausführungsform der Kammer ist die erste Elektrode als Innenelektrode mit zylindrischer und die zweite Elektrode als Außenelektrode mit nach innen gerichteter zylindrischer Oberfläche ausgebildet, so daß die Zone ein zylindrischer Ringraum ist. Die eine Stirnseite des Ringraumes ist nach außen offen, während die andere Stirnseite des Ringraumes in einen axialen Kanal mündet, der in der Innenelektrode verläuft und in die Einfüllöffnung mündet. Diese besteht in einem sich nach außen hin erweiternden Innenkonus, dessen Abmessungen so gewählt sind, daß in ihn eine Pipette eingeführt werden kann.

DE 3522610 A1

Patentansprüche

1. Kammer für die Behandlung von Zellen im elektrischen Feld mit einem zur Aufnahme der die Zellen enthaltenden Suspension vorgesehenen Raum mit einer zwischen zwei Elektroden liegenden Zone, innerhalb der die Zellen einem zwischen den Elektroden ausgebildeten elektrischen Feld ausgesetzt werden,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß die Zone (1) - bis auf eine Einfüll- bzw. Ausfüllöffnung (4) für die Zellsuspension - von äquidistant einander gegenüberliegenden, koaxial oder konzentrisch angeordneten Oberflächen der Elektroden (2, 3) begrenzt ist.
2. Kammer nach Anspruch 1,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß im Bereich der Zone (1) die erste Elektrode (2) als Innenelektrode mit zylindrischer oder im wesentlichen zylindrischer Oberfläche und die zweite Elektrode (3) als Außenelektrode mit nach innen gerichteter zylindrischer oder im wesentlichen zylindrischer Oberfläche ausgebildet sind, so daß die Zone (1) ein zylindrischer oder nahezu zylindrischer Ringraum ist.

3. Kammer nach Anspruch 2,
dadurch gekennzeichnet,
daß die eine Stirnseite des Ringraumes (1)
nach außen offen ist (4) und daß sich an
der anderen Stirnseite des Ringraumes zu-
mindest eine radiale, in der Innenelektrode (2)
verlaufende Querbohrung (5) anschließt,
die in einen axialen Kanal (6) mündet,
der in der Innenelektrode verläuft und
der zu der der Ausfüllöffnung (4) entgegen-
gesetzten Seite der Kammer hin nach außen
offen ist.
4. Kammer nach Anspruch 3,
dadurch gekennzeichnet,
daß die beiden Elektroden (2, 3) außerhalb
des Bereichs des Ringraumes (1) durch ein
Isolierteil (8) voneinander getrennt sind,
das bis zur Querbohrung (5) reicht, einen
Teil der Innenelektrode (2) im Bereich
des axialen Kanals (6) umfaßt und die beiden
Elektroden bis zur Außenseite der Kammer
voneinander trennt, so daß die Außenelektrode (3)
im wesentlichen im Bereich des Ringraumes (1)
und die Innenelektrode (2) im übrigen Teil
der Kammer von außen zugänglich sind.
5. Kammer nach Anspruch 4,
dadurch gekennzeichnet,
daß der axiale Kanal (6) in einen sich
nach außen hin erweiternden Innenkonus (7)
mündet, dessen Abmessungen so gewählt sind,

daß in ihn eine Pipette eingeführt werden kann.

6. Kammer nach Anspruch 5,
dadurch gekennzeichnet,
daß die Außenelektrode (3) zur Seite der
Ausfüllöffnung (4) des Ringraumes (1) hin
sich verjüngend konisch ausgebildet ist.
7. Kammer nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet,
daß die erste Elektrode (2) als Innenelektrode
ausgebildet und im Bereich der Zone (1)
kugelförmig oder nahezu kugelförmig ist
und daß die zweite Elektrode (3) als Außen-
elektrode ausgebildet ist und im Bereich
der Zone (1) eine der Oberfläche einer
Kugel entsprechende oder nahezu entsprechende
Innenoberfläche aufweist, so daß die Zone
ein zwischen zwei konzentrischen Kugelober-
flächen oder nahezu kugeligen Oberflächen
liegender Raum ist.
8. Kammer nach Anspruch 7,
dadurch gekennzeichnet,
daß die als Innenelektrode ausgebildete
erste Elektrode (2) stabförmig mit an einem
Ende angebrachtem Kugelkopf ausgebildet
ist.
9. Kammer nach Anspruch 7 oder 8,
dadurch gekennzeichnet,

daß die Innenelektrode (2) in eine in der Form eines Reagenzglases ausgebildete Außenhülle (3 und 9) hineinragt, wobei im Bereich der Zone (1) die Innenoberfläche der Außenhülle zugleich die Innenoberfläche der Außenelektrode (3) ist.

10. Kammer nach Anspruch 9,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß am stabförmigen Teil der Innenelektrode
(2) Führungsringe (13) angebracht sind.
11. Kammer nach Anspruch 9 oder 10,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß die Außenhülle (3 und 9) im Bereich
der Zone (1) durch die Außenelektrode (3)
gebildet wird.
12. Kammer nach Anspruch 11,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß die Außenelektrode (3) vom übrigen
Teil der Außenhülle durch ein Isolierteil
getrennt ist.
13. Kammer nach Anspruch 11,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß der übrige Teil (9) der Außenhülle
aus einem elektrisch isolierenden Material
besteht.
14. Kammer nach einem der Ansprüche 8 bis 11
sowie wahlweise nach Anspruch 12 oder 13,

d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß an dem dem Kugelkopf entgegengesetzten
Ende der Innenelektrode (2) ein Verschluß
(10) für die in der Form eines Reagenzglases
ausgebildeten Außenhülle (3 und 9) angebracht
ist.

15. Kammer nach Anspruch 14,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß der Verschluß (10) aus Metall besteht.
16. Kammer nach Anspruch 14 oder 15,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß der Verschluß (10) eine Öffnung (11)
mit Stopfen (12) aufweist.

17. Kammer für die Behandlung von Zellen im elektrischen Feld mit einem zur Aufnahme der die Zellen enthaltenden Suspension vorgesehenen Raum mit einer zwischen zwei Elektroden liegenden Zone, innerhalb der die Zellen einem zwischen den Elektroden ausgebildeten elektrischen Feld ausgesetzt werden,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß die Zone (1) eine nach außen offene Ausfüllöffnung (4) aufweist und die Zone, zumindest aber deren Bereich um die Ausfüllöffnung so bemessen ist, daß die Zellsuspension durch Kapillärwirkung in der Zone gehalten wird und wobei die Zone eine Einfüllöffnung aufweist, die mit einem Anschluß (7) für eine Pipette o.dgl. verbunden ist.
18. Kammer nach Anspruch 17,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß der Bereich der Ausfüllöffnung in der Form von kapillaren Kanälen gestaltet ist.
19. Verfahren zum Befüllen und Entleeren einer Kammer gemäß Anspruch 5 oder Anspruch 17,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß zum Befüllen der Kammer bzw. der Zone (1) Zellsuspension über den Anschluß (7) mittels einer Pipette o.dgl. gedrückt wird und
daß zum Entleeren der Kammer bzw. der Zone die behandelte Zellsuspension über die Einfüllöffnung herausgesaugt oder durch Eindrücken einer zweiten Lösung in die

Kammer bzw. Zone aus dieser hinausgedrückt
wird.

Kernforschungsanlage Jülich
Gesellschaft mit beschränkter Haftung

Kammer für die Behandlung von Zellen im
elektrischen Feld

Die Erfindung bezieht sich auf eine Kammer für die Behandlung von Zellen im elektrischen Feld mit einem zur Aufnahme der die Zellen enthaltenden Suspension vorgesehenen Raum mit einer zwischen zwei Elektroden liegenden Zone, innerhalb der die Zellen einem zwischen den Elektroden ausgebildeten elektrischen Feld ausgesetzt werden.

Eine Kammer der eingangs bezeichneten Art ist aus der DE-OS 33 17 415 bekannt. Bei dieser bekannten Kammer wird der zur Aufnahme der Zellsuspension vorgesehene Raum durch einen zylinderförmigen Innenkörper und einen diesen umgebenden Außenkörper gebildet. Die beiden Elektroden umgeben den Innenkörper in Form einer mehrgängigen Schraube, so daß die Zone, innerhalb der die Zellen dem elektrischen Feld ausgesetzt werden, als den Innenkörper in Form einer mehrgängigen Schraube umgebenden Teilbereich ausgebildet ist. Diese Ausführungsform der Kammer bietet zwar die Möglichkeit, eine sehr große Zahl von Zellen zugleich einer elektrischen Behandlung zu unterziehen. Ein gewisser

Nachteil besteht dabei jedoch darin, daß konstruktionsbedingt nicht alle in der Zone befindlichen Zellen der gleichen elektrischen Feldstärke ausgesetzt werden. Dies erhöht die ohnehin durch die natürliche Streuung der Eigenschaften einer Zellpopulation bedingte Schwankungsbreite im Hinblick auf das gewünschte Produkt. Darüberhinaus ist diese bekannte Kammer aufwendig in der Herstellung und daher kostspielig.

Eine Kammer der eingangs bezeichneten Art ist ferner aus der DE-OS 33 21 239 bekannt. Diese besteht aus einer Grundplatte mit einem den Raum für die Zellsuspension bildenden weiteren Teil, wobei in den Raum zwei drahtförmige Elektroden hineinragen. Zwar ist diese Ausführungsform der Kammer leicht und preiswert herstellbar. Bei der zwischen den Elektroden liegenden Zone treten jedoch die gleichen Nachteile wie bei der vorgenannten Kammer auf.

Kammern der beschriebenen Art sind generell einsetzbar für die Behandlung von Zellen im elektrischen Feld, insbesondere auch zur Fusion von Zellen.

Ein Verfahren zur Fusion von Zellen ist aus Biochimica et Biophysica Acta, 694 (1982), 227 - 277 (Electric Field-Mediated Fusion and Related Electrical Phenomena,

U. Zimmermann) bekannt. Bei diesem bekannten Verfahren - dessen Ablauf unter dem Mikroskop beobachtet werden kann - wird der Membrankontakt zwischen wenigstens zwei Zellen durch Anlegen eines alternierenden, schwach homogenen Feldes erzeugt. Durch das elektrische Feld werden, bedingt durch Polarisationsprozesse in der Zelle, Dipole erzeugt, die sich gegenseitig anziehen, wenn sich die Zellen während ihrer Wanderung im elektrischen Feld einander nähern (sog. Dielektrophorese). Nach der Bildung der Zellenreihe werden die Störungen in der Membranstruktur zwischen benachbarten Zellen durch einen elektrischen Durchbruchpuls ausgelöst (J. Membrane Biol. 67, 165 - 182 (1982), Electric Field-Induced Cell-to-Cell Fusion, U. Zimmermann and J. Vienken). Dabei werden - nach den bisherigen Modellvorstellungen - Löcher in der Membrankontaktzone benachbarter Zellen erzeugt, die zu einem zytoplasmatischen Kontinuum zwischen den beiden Zellen und zur Brückenbildung von Lipiden zwischen den Membranen der benachbarten Zellen führen. Die Lipidmoleküle ordnen sich nicht mehr in ihre ursprüngliche Membran ein. Sobald sich eine Brücke gebildet hat, kommt es aus energetischen Gründen zur Abrundung des entstandenen Gebildes, das aus den über die Lipidbrücken miteinander verbundenen Zellen besteht.

Es ist Aufgabe der Erfindung, eine Kammer zu schaffen, die einfach herzustellen und leicht handhabbar ist und bei der der oben erwähnte Nachteil der bekannten Kammern vermieden ist.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß durch eine Kammer der eingangs bezeichneten Art gelöst, bei der die Zone - bis auf eine Einfüll- bzw. Ausfüllöffnung für die Zellsuspension - von äquidistant einander gegenüberliegenden, koaxial oder konzentrisch angeordneten Oberflächen der Elektroden begrenzt ist. Die Zone ist damit durch die Elektroden räumlich abgegrenzt. In jedem Bereich der Zone ist, da sie ja durch äquidistante Oberflächen der Elektroden umfaßt wird, die elektrische Feldstärke gleich, so daß für alle in der Zone befindlichen Zellen die gleichen elektrischen Bedingungen gegeben sind. Im Bereich der Zone ist damit zugleich auch der zur Aufnahme der Zellsuspension vorgesehene Raum mit der Zone identisch.

Bei einer ersten besonderen Ausführungsart der Kammer gemäß der Erfindung ist im Bereich der Zone die erste Elektrode als Innenelektrode mit zylindrischer oder im wesentlichen zylindrischer Oberfläche und die zweite Elektrode als Außenelektrode mit nach innen gerichteter zylindrischer oder im wesentlichen zylindrischer Oberfläche ausgebildet, so daß die Zone ein zylindrischer oder nahezu

zylindrischer Ringraum ist. Die geometrische Form des Ringraumes kann dabei insofern von der zylindrischen Form abweichen, als der Querschnitt nicht exakt kreisförmig sein muß, sondern beispielsweise auch oval sein kann.

Eine zweckmäßige Ausgestaltung der ersten Ausführungsart der Kammer besteht darin, daß die eine Stirnseite des Ringraumes nach außen offen ist und daß sich an der anderen Stirnseite des Ringraumes zumindest eine radial in der Innenelektrode verlaufende Querbohrung anschließt, die in einen axialen Kanal mündet, der in der Innenelektrode verläuft und der zu der der Ausfüllöffnung entgegengesetzten Seite der Kammer nach außen offen ist.

Zur Vorbereitung der elektrischen Behandlung der Zellen wird die Zellsuspension über den Kanal in die Zone eingedrückt, in der sie - bei üblichen Elektrodenabständen von 20 bis 500 μm - verbleibt, ohne herauszu tropfen. Nach der elektrischen Behandlung kann die Zellsuspension durch Nachdrücken von Gas (Luft) oder einer zweiten Lösung oder durch Zentrifugieren aus der Zone herausgedrückt werden.

Um beide Elektroden in einfacher Weise an die elektrische Versorgung anschließen zu können, sind - bei der ersten Ausführungsart der Kammer - die beiden Elektroden

- 8 -

außerhalb des Bereichs des Ringraumes durch ein Isolierteil voneinander getrennt, das bis zur Querbohrung reicht, einen Teil der Innenelektrode im Bereich des axialen Kanals umfaßt und die beiden Elektroden bis zur Außenseite der Kammer voneinander trennt, so daß die Außenelektrode im wesentlichen Bereich des Ringraumes und die Innenelektrode im übrigen Teil der Kammer von außen zugänglich sind. Die elektrischen Anschlüsse können bei dieser Ausführungsform auf einfache Weise von außen an die Kammer angelegt werden, wobei es für die Durchführung der Fusion von Zellen in der Regel um Anschlüsse einer elektrischen Einrichtung zur Erzeugung eines alternierenden elektrischen Feldes und einer elektrischen Einrichtung zur Erzeugung elektrischer Spannungsimpulse handelt.

Eine weitere, sehr vorteilhafte Ausführungsform der ersten Ausführungsart der Kammer besteht darin, daß der axiale Kanal in einen sich nach außen hin erweiternden Innenkonus mündet, dessen Abmessungen so gewählt sind, daß in ihn eine Pipette eingeführt werden kann. Über die Pipette kann auf diese Weise eine an das Volumen der Zone angepaßte Menge an Zellsuspension in die Kammer eingeführt werden. Dies ermöglicht eine sehr einfache Handhabung der Kammer,

wobei bei Vorhandensein einer Vielzahl von Kammern auf sehr einfache Weise eine Serie von Behandlungen von Zellen, beispielsweise ganze Untersuchungsreihen an einer oder mehrerer Zellsuspensionen durchgeführt werden können.

Um die Kammern in eine elektrische Steckverbindung, die den Kontakt mit der elektrischen Versorgung herbeiführt, leicht einführen zu können, ist es ferner zweckmäßig, daß die Außenelektrode zur Seite der Ausfüllöffnung des Ringraumes hin sich verjüngend konisch ausgebildet ist.

Bei einer zweiten Ausführungsart der Kammer gemäß der Erfindung ist die erste Elektrode als Innenelektrode ausgebildet und im Bereich der Zone kugelförmig oder nahezu kugelförmig und die zweite Elektrode als Außenelektrode ausgebildet, wobei sie im Bereich der Zone eine der Oberfläche einer Kugel entsprechende oder nahezu entsprechende Innenoberfläche aufweist, so daß die Zone ein zwischen zwei konzentrischen Kugeloberflächen oder nahezu kugeligen Oberflächen liegender Raum ist.

Die als Innenoberfläche ausgebildete erste Elektrode ist zweckmäßigerweise stabförmig mit an einem Ende angebrachtem Kugelpf ausgebildet. Diese Innenelektrode ragt

in eine in der Form eines Reagenzglases ausgebildete Außenhülle hinein, wobei im Bereich der Zone die innere Oberfläche der Außenhülle zugleich die innere Oberfläche der Außenelektrode ist.

Zur Vorbereitung der elektrischen Behandlung der Zellen wird die Innenelektrode in die reagenzglasförmige Außenhülle eingebracht und erst dann die Zellsuspension oder eine Lösung und anschließend eine kleine Menge an Zellsuspension eingefüllt. Für den Fall, daß die eingefüllte Lösungsmenge größer ist, als es dem Volumen der Zone entspricht, sammeln sich die Zellen durch Sedimentation im Bereich der Zone an.

Zur Führung der Innenelektrode in der reagenzglasförmigen Außenhülle sind am stabförmigen Teil der Innenelektrode Führungsringe angebracht, die die Innenelektrode in dem zylindrischen Teil der reagenzglasförmigen Außenhülle führen.

Um den elektrischen Kontakt von außen an die Außenelektrode anlegen zu können, ist die Außenhülle im Bereich der Zone durch die Außenelektrode gebildet. Die Außenelektrode kann dabei vom übrigen Teil der Außenhülle durch ein Isolierteil getrennt sein. Alternativ kann der übrige Teil der Außenhülle auch aus einem elektrisch isolierenden Material bestehen. Der zweite elektrische



3522610

Kontakt liegt am stabförmigen Teil der Innenelektrode an.

Eine zweckmäßige Ausführungsform der zweiten Ausführungsart der Kammer gemäß der Erfindung besteht darin, daß an dem dem Kugelkopf entgegengesetzten Ende der Innenelektrode ein Verschluß für die in der Form eines Reagenzglases ausgebildete Außenhülle angebracht ist.

Für den Fall, daß die Außenhülle im Bereich der Zone durch die Außenelektrode gebildet wird und der übrige Teil der Außenhülle aus einem elektrisch isolierenden Material besteht, besteht der Verschluß aus einem Metall, so daß der Anschluß der elektrischen Spannung an die Innenelektrode über diesen metallischen Verschluß erfolgen kann.

Zur leichteren Handhabung der Kammer ist am Verschluß eine Öffnung mit einem Stopfen vorgesehen. Durch diese Öffnung wird die Zellsuspension eingefüllt. Zur Entnahme der Zellsuspension nach erfolgter elektrischer Behandlung der Zellen wird der Verschluß abgenommen und damit die Innenelektrode aus der reagenzförmigen Außenhülle herausgenommen. Die weitere Behandlung der Zellsuspension erfolgt dann wie bei jedem Reagenzglas üblich.

In Erweiterung der Ausführungsform der ersten Ausführungsart der Kammer gemäß der Erfindung, bei der ein Anschluß für eine Pipette vorgesehen ist, ist die Kammer gemäß der Erfindung dadurch gekennzeichnet, daß die Zone eine nach außen offene Ausfüllöffnung aufweist und die Zone, zumindest aber deren Bereich um die Ausfüllöffnung so bemessen sind, daß die Zellsuspension durch Kapillarwirkung in der Zone gehalten wird und wobei die Zone eine Einfüllöffnung aufweist, die mit einem Anschluß für eine Pipette o.dgl. verbunden ist.

Der Bereich der Ausfüllöffnung kann beispielsweise auch in Form von kapillaren Kanälen gestaltet sein.

Bei dieser Ausführungsart der Kammer gemäß der Erfindung kann die Zone sehr unterschiedlich gestaltet sein. Lediglich die Einfüllöffnung mit dem für eine Pipette o.dgl. vorgesehenen Anschluß und die nach außen offene Ausfüllöffnung und die kapillare Bemessung des Bereichs dieser Ausfüllöffnung sind dann vorgegeben. So kann beispielsweise die Zone so gestaltet sein, wie sie aus der DE-OS 33 17 415 oder auch aus der DE-OS 33 21 239 bekannt ist.

Auch kann beispielsweise bei der zweiten Ausführungsart der Kammer gemäß der Erfindung,

bei der eine reagenzglasförmige Außenhülle vorgesehen ist, diese Außenhülle nach unten kapillare Kanäle aufweisen und am Verschluß dieser Kammer bzw. an dessen Öffnung ein Zusatz für den Anschluß einer Pipette vorgesehen sein. Diese Version der Kammer wird dann mittels einer Pipette befüllt und durch Eindrücken einer zweiten Lösung (ebenefalls mittels der Pipette) über die Kanäle nach unten entleert.

Das Verfahren zum Befüllen und Entleeren einer entsprechend gestalteten Kammer besteht somit darin, daß zum Befüllen der Kammer bzw. der Zone Zellsuspension über den Anschluß mittels einer Pipette o.dgl. gedrückt wird und daß zum Entleeren der Kammer bzw. der Zone die behandelte Zellsuspension über die Kammer bzw. Zone aus dieser hinausgedrückt wird. Dieses Verfahren ermöglicht eine besonders einfache Handhabung der entsprechenden Fusionskammer.

Die beiden ersten Ausführungsarten der Kammer gemäß der Erfindung sind in der Zeichnung schematisch dargestellt und werden im folgenden näher erläutert:

Es zeigen

Figur 1 die erste Ausführungsart,
welche mittels einer Pipette
befüllbar ist,

Figur 2 die zweite Ausführungsart
der Kammer mit reagenzglas-
förmiger Außenhülle und
stabförmiger Innenelektrode
mit Kugelkopf.

Beide Ausführungsarten der Kammer weisen,
wie aus den Figuren 1 und 2 ersichtlich
ist, eine Zone 1 auf, die - bis auf eine
Einfüll- bzw. Ausfüllöffnung - je nach
Ausführungsart durch koaxial oder konzentrisch
angeordnete Oberflächen der Elektroden
2 und 3 begrenzt ist.

Bei der in Figur 1 dargestellten Ausführungs-
art der Kammer ist die Innenelektrode 2
im Bereich der Zone 1 als zylindrischer
Körper ausgebildet und von der Außenelektrode 3
derart umgeben, daß die Zone 1 ein zylindrischer
Ringraum ist. Dieser Ringraum ist an einer
Stirnseite nach außen (unten) offen und
hat hier seine Ausfüllöffnung 4. An der
anderen Stirnseite schließt sich an den
Ringraum 1 eine radial, in der Innenelektrode 2
verlaufende Querbohrung 5 an, die in einen
axialen, in der Innenelektrode 1 angeordneten
Kanal 6 mündet. An diesen Kanal schließt
sich ein sich nach außen hin erweiternder
Konus 7 an, dessen Abmessungen so gewählt
sind, daß eine Pipette eingeführt werden
kann.

Innenelektrode 2 und Außenelektrode 3 sind durch ein Isolierteil 8 voneinander getrennt. Die Außenelektrode 3 ist im Bereich der Zone 1 und die Innenelektrode 2 im oberen Bereich der Kammer von außen zugänglich. Die Außenelektrode ist außerdem konisch, nach unten sich verjüngend, ausgebildet. Die Kammer kann dadurch an die zur Durchführung der elektrischen Behandlung der Zellen benötigten elektrischen Spannungen angelegt werden, indem sie in eine der Kammerform entsprechende Steckverbindung eingesetzt wird.

Mittels der Pipette kann eine genau dosierte Menge an Lösung, in der die Zellen suspendiert sind, in die Zone eingedrückt werden. Durch Einfüllen einer weiteren, ebenfalls genau dosierten Lösungsmenge wird die behandelte Zellsuspension nach unten durch die Ausfüllöffnung 4 aus der Kammer - beispielsweise in ein Reagenzglas - gedrückt.

Beispielsweise bei Abmessungen von $D = 4,4 \text{ mm}$, $d = 4,0 \text{ mm}$ und einer Höhe der Zone von $h = 12$ ergibt sich ein Zonenvolumen von ca. $32 \mu\text{l}$ bei einem Elektrodenabstand von $0,2 \text{ mm}$.

Bei der in Figur 2 dargestellten Ausführungsart der Kammer ist die Innenelektrode 1 stabförmig mit einem Kugelkopf ausgebildet. Die Außenhülle der Kammer weist die Form eines Reagenzglases auf, sie besteht im

unteren Teil aus der Außenelektrode 2 und ist im oberen zylindrischen Teil 9 aus Kunststoff gefertigt.

An den stabförmigen Teil der Innenelektrode 2 schließt sich der Verschluß 10 an, der aus Metall besteht. Der Verschluß weist eine Öffnung 11 mit Stopfen 12 auf. Zur Führung der Innenelektrode im zylindrischen Teil der reagenzglasförmigen Außenhülle sind Führungsringe 13 vorgesehen.

Zur Durchführung der elektrischen Behandlung der Zellen wird die elektrische Spannung von außen im Bereich der Zone 1 an die Außenelektrode und an die Innenelektrode über den Verschluß 10 angelegt.

Bei einem Durchmesser der Kugel von 19,6 mm und einem inneren Durchmesser der Außenelektrode von 20 mm ergibt sich bei einem Elektrodenabstand von 0,2 mm ein Zonenvolumen von etwa 250 μ l.

Zur Vorbereitung der elektrischen Behandlung der Zellen bei einer Kammer der angegebenen Abmessungen werden über die Öffnung 11 etwa 250 μ l Lösung und danach 10 bis 200 μ l Zellsuspension eingefüllt. Nachdem die Zellen in die Zone durch Sedimentieren gelangt sind, wird die Kammer für die Zeit der Durchführung der elektrischen Behandlung an die elektrische Versorgung angeschlossen. Anschließend wird die Innenelektrode aus

der Außenhülle herausgenommen und die hierin
befindliche Lösung in üblicher Weise weiter-
behandelt.

-23-

- Leerseite -

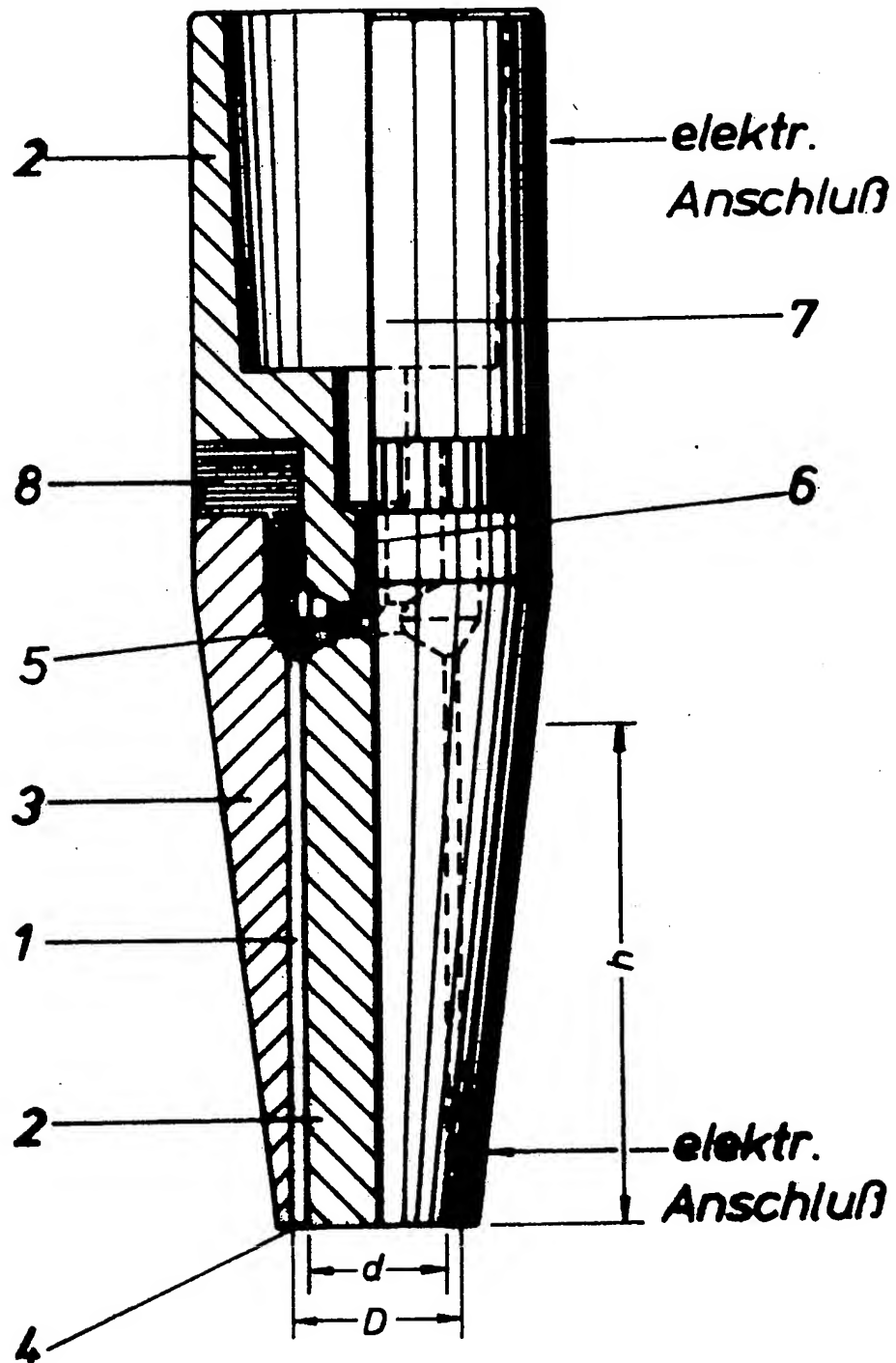


Fig. 1

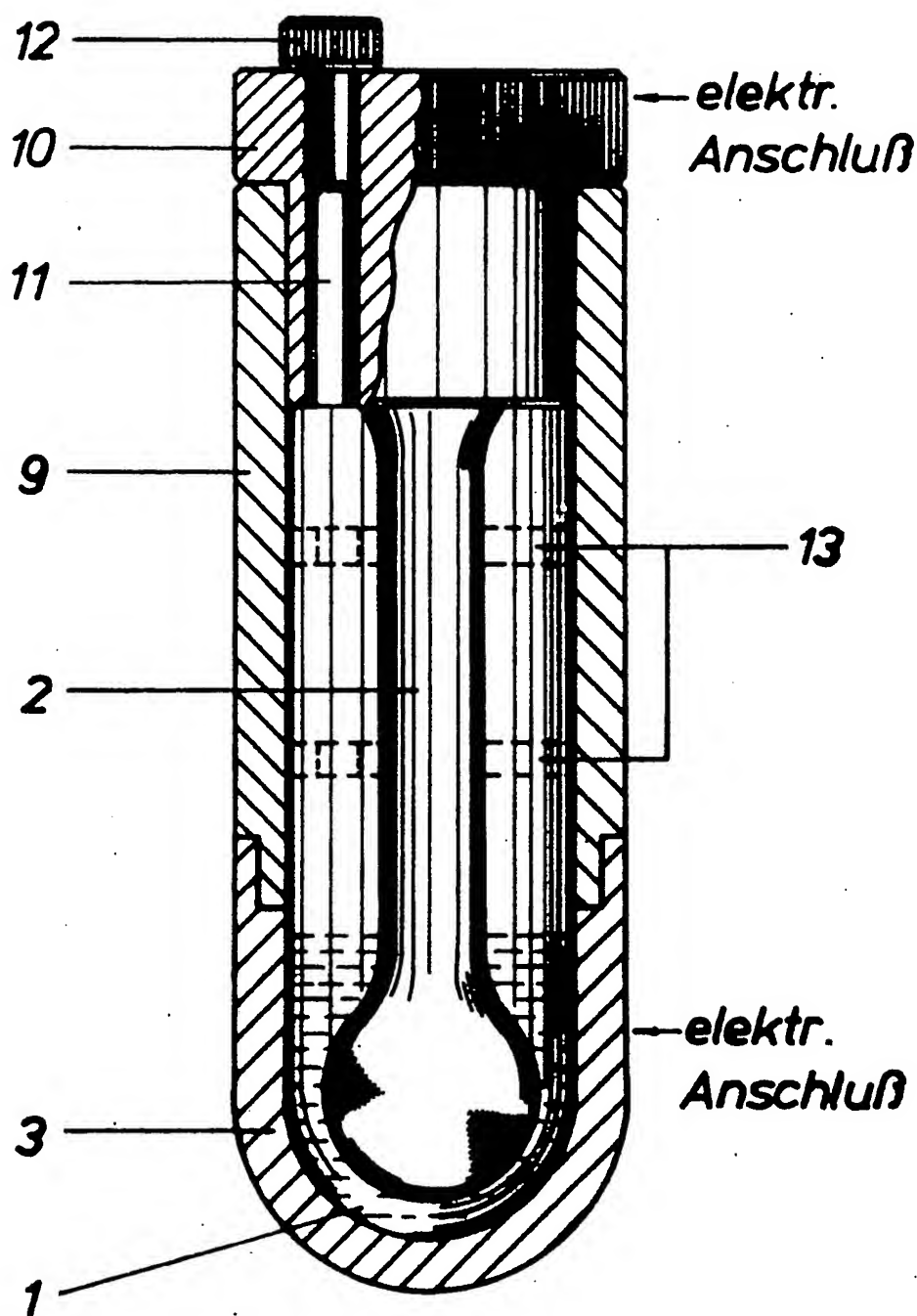


Fig. 2